



# Produção de emulsões e microgéis em dispositivos microfluídicos paralelizados de alta produtividade

**Palavras-Chave:** microfluídica, microcanais, paralelização, *scale-up*, emulsões

**Autores/as:**

Alexandre Prieschl Teixeira [UNICAMP]

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucimara Gaziola de La Torre [UNICAMP]

Dr.<sup>a</sup> Ana Letícia Rodrigues Costa Lelis [UNICAMP]

---

## INTRODUÇÃO:

A microfluídica é a ciência e tecnologia de sistemas que transportam fluidos em canais de escala micrométrica ( $10^{-6}$  m). Essa técnica possui diversas vantagens em relação ao trabalho de fluidos em maior escala, como a realização de separações e detecções com alta resolução e sensibilidade, baixo custo empregado e menores tempos para análises químicas e biológicas (WHITESIDES, 2006). Nos dispositivos microfluídicos, as características dos fluidos como viscosidade, densidade e tensão interfacial influenciam diretamente o seu escoamento, devido às menores dimensões dos canais. Assim, em processos de mistura as maiores interações dos fluidos com a superfície permitem que esta ocorra exclusivamente pela difusão de moléculas através da interface entre os fluidos. Além disso, na mistura de líquidos imiscíveis, as gotas são formadas uma-a-uma nas junções dos canais em um regime de escoamento laminar. Nos processos de emulsificação convencionais, os equipamentos utilizados, como os homogeneizadores de alta pressão, aplicam elevadas forças mecânicas sobre os fluidos, e o resultado é a obtenção de uma fase dispersa com elevado tamanho e baixa uniformidade na distribuição de tamanho das gotas (VAN DIJKE et al., 2010). A utilização da microfluídica pode superar esses problemas produzindo emulsões termodinamicamente mais estáveis com diâmetro de gotas reduzido e maior uniformidade em seu tamanho (STEEGMANS et al., 2009).

Emulsões monodispersas com gotas menores podem ser utilizadas como sistemas de entrega e proteção de vários compostos bioativos. No entanto, um sistema de proteção mais eficiente pode ser alcançado com a adição de biopolímeros gelificantes, como os polissacarídeos. Nos microcanais, microgéis podem ser produzidos a partir da gelificação das gotas da emulsão previamente formada, promovendo maior resistência e estabilidade mecânica ao sistema (VILELA, 2016).

A paralelização dos canais em um único dispositivo é vista como uma opção vantajosa para o aumento de produtividade em dispositivos microfluídicos sem alterar seu custo já que não haveria a necessidade de várias bombas, uma vez que permitem produzir quantidades maiores de gotas com simples alterações no *design* dos canais (ROMANOWSKY et al., 2012). De um ponto de vista reverso, produzir emulsões e microgéis em dispositivos paralelizados para posterior análise da fração da fase dispersa em termos do volume total produzido por tempo, distribuição de tamanho de gotas e microestrutura pode ser uma estratégia para avaliar o desenvolvimento, utilização e desempenho de um dispositivo microfluídico paralelizado.

## METODOLOGIA:

### Metodologia de construção do dispositivo microfluídico paralelizado

Os dispositivos foram produzidos usando o polímero polidimetilsiloxano (PDMS) por meio da técnica de litografia macia (Figura 1). Para produção do molde, foi depositado um filme de fotorresina (SU-8) na superfície da placa de silício (Si), e então colocada em um *Spinner*, promovendo seu espalhamento uniforme na superfície da placa. A vantagem em usar esta resina é que a espessura do molde é diretamente proporcional a viscosidade do SU-8, que pode ser manipulada variando a concentração da resina. Em seguida, foi aplicada uma máscara contendo a imagem negativa do microcanal e logo após o dispositivo foi submetido radiação UV para endurecimento do molde (fotolitografia) e deixado em vácuo para endurecimento do PDMS.

Para a produção da máscara todas as estruturas do dispositivo microfluídico paralelizado foram desenhadas no software Autodesk Architectural Desktop (Educational version, 2005) (Figura 2), seguido por sua impressão em fotolito (Figura 3). O fotolito é composto de uma folha plástica com regiões transparentes e opacas de alto contraste.

Uma vez que o PDMS estava seco, ele foi retirado da máscara (processo conhecido como *peeling*), e então foi aplicado uma solução de borato de potássio para remoção do SU-8 que não teve contato com a radiação. O resultado foi a obtenção do molde negativo do dispositivo, que então foi selado a uma lâmina de PDMS através da ativação da superfície do polímero por plasma de hélio por 30 min, dando corpo ao dispositivo microfluídico paralelizado (Figura 4). A ativação com o plasma tem como finalidade de tornar o polímero hidrofílico, dado que sua superfície característica é hidrofóbica, o que acarreta uma menor molhabilidade superficial com a fase aquosa.

Na figura 2, podemos observar o design do dispositivo em que (a,b) são os locais para alimentação da fase aquosa, (c) local para saída da emulsão e (d) local para alimentação de fase oleosa. O sistema de canais microfluídicos para a distribuição da fase aquosa está destacado em verde. O sistema de canais microfluídicos para distribuição da fase oleosa são os canais inferiores em preto, enquanto os canais superiores em preto são para coleta para emulsão gerada dentro do dispositivo.

### Produção de emulsões no dispositivo microfluídico paralelizado

Os testes iniciais para a produção de emulsões do tipo água-em-óleo (A/O) no dispositivo microfluídico paralelizado foram realizados no Centro de Componentes Semicondutores e

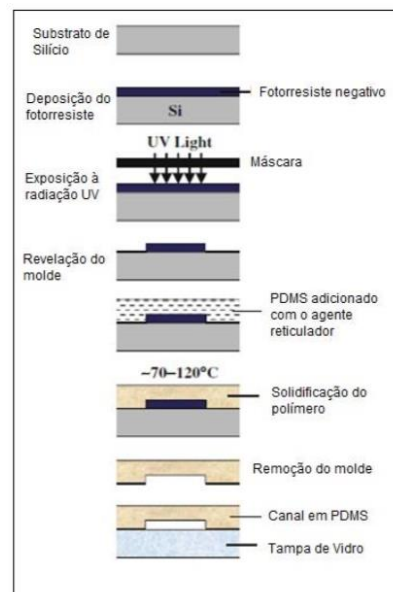


Figura 1. Processo de fabricação dos microcanais de PDMS pela técnica de litografia macia. Adaptado de Vladislavjevic et al., (2012).

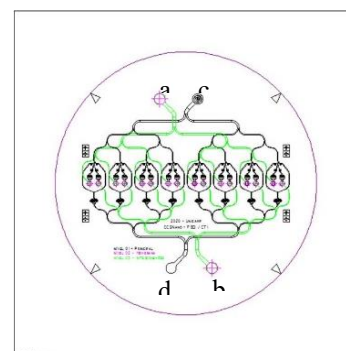


Figura 2. Design das estruturas do dispositivo microfluídico paralelizado desenhadas no software Autodesk Architectural Desktop Educational version, 2005).



Figura 3. Fotolito industrial usado como máscara para litografia.

Nanotecnologias (CCSNano) - UNICAMP, localizado em Campinas, São Paulo. A água e o óleo de milho adicionado do surfactante polirricinoleato de poliglicerol (PGPR, 4% m/m) foram utilizados como fase contínua e oleosa, respectivamente. As fases foram inseridas dentro do dispositivo microfluídico utilizando bombas seringa através das mangueiras acopladas ao dispositivo, conforme descrito anteriormente. As vazões totais de entrada das fases dispersa e contínua foram 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  e 25  $\mu\text{L}/\text{min}$ , respectivamente, resultando em uma vazão de 0,625  $\mu\text{L}/\text{min}$  e 3,125  $\mu\text{L}/\text{min}$  para cada um dos 8 dos focos de produção de emulsão. O processo de geração das gotas dentro do dispositivo microfluídico paralelizado foi observado em microscópio óptico. A emulsões foram coletadas na saída de uma mangueira também acoplada ao dispositivo.

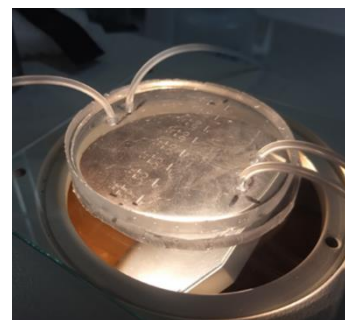


Figura 4. Dispositivo microfluídico paralelizado

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O dispositivo microfluídico paralelizado de PDMS produzido pela técnica da litografia macia funcionou perfeitamente sem vazamentos e com todas as vinte conexões de fluxo delicadas operando. A vantagem de usar o PDMS em vez de materiais mais tradicionais, como silicone e placas de vidro é que sua aderência a superfícies lisas é alta devido a suas propriedades químicas, permitindo uma montagem mais prática do chip microfluídico, sem a necessidade de uma ligação anódica ou fusão por temperatura. Sua estabilidade térmica, baixa tensão superficial, ópticamente transparente (para comprimentos de onda compreendidos entre 290-1100 nm) são algumas de suas propriedades que favorecem seu uso na microfluídica. Além disso, não é inflamável nem tóxico, é eletricamente e termicamente isolante (condutividade térmica de 0,18 W/m.K), também inerte e resistente a vários químicos (SOUSA, 2011).

Nos testes preliminares de produção das emulsões A/O, uma das dificuldades foi, de fato, a aparição de bolhas que impediam o escoamento correto dos fluidos – mesmo o dispositivo tendo sido submetido a ativação com plasma. Uma alternativa ao uso de plasma é a aplicação de silicato de sódio, que funcionará de forma análoga, objetivando a oxidação superficial do PDMS (SOUSA, 2011). Após a retirada de todas as bolhas de dentro do dispositivo microfluídico paralelizado, observou-se que o sistema de distribuição das fases aquosa e oleosa desenvolvido se mostrou estável e capaz de ser utilizado para produção das emulsões A/O. A Figura 5 mostra os diversos pontos da trajetória das gotas de água dispersas em óleo e estabilizadas pelo surfactante PGPR nos canais paralelizados desde sua formação (Figura 5a) até a última bifurcação de saída (Figura 5d), mostrando a viabilidade da paralelização.

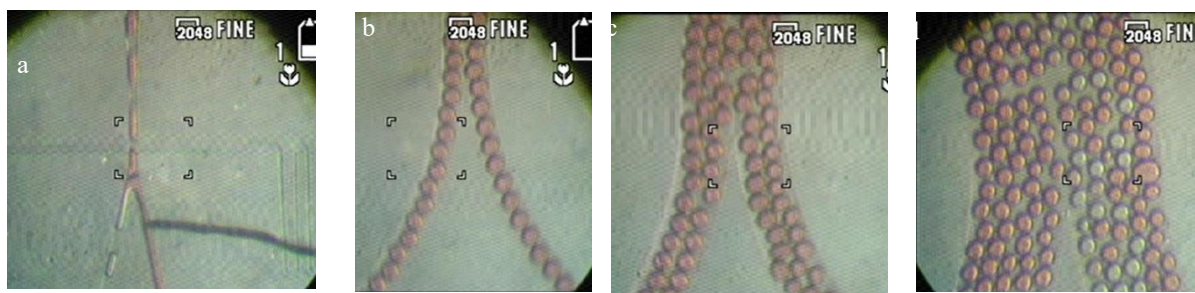


Figura 5. Trajetória das gotas de água dispersas em óleo e estabilizadas pelo surfactante PGPR nos canais paralelizados desde sua formação (a) até a última bifurcação de saída (d).

	Area	Mean	Min	Max	Perim.	Angle	Length
1	15	111.465	76.648	129.881	13.924	-132.089	13.924
2	11	86.737	52.667	118.302	10.355	-146.821	10.355
3	11	40.780	18.567	70.182	9.534	-143.531	9.534
4	10	66.176	39.176	102.322	9.262	-149.744	9.262
5	12	111.233	82.167	150.854	11.101	-138.652	11.101
6	10	124.218	89.417	162.818	9.339	-145.176	9.339
7	12	129.505	105.269	146.344	11.180	-116.565	11.180
8	14	127.266	102.056	162.740	12.867	-126.573	12.867
9	11	124.696	102.056	149.807	9.804	-125.311	9.804
10	9	126.877	92.463	161.000	7.951	-146.976	7.951

Tabela 1. Dados dos parâmetros obtidos através da medida manual das imagens das gotas produzidas no dispositivo microfluidico paralelizado utilizando o programa ImageJ.

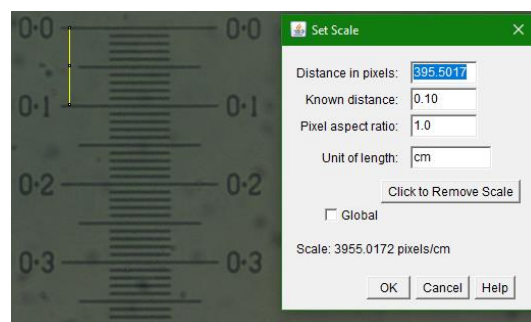


Figura 6. Determinação da escala no ImageJ

As análises de tamanho e polidispersidade das gotas de emulsão A/O produzidas no dispositivo microfluídico paralelizado são realizadas a partir dos dados obtidos no programa ImageJ, com o auxílio de uma régua, usada como referência, estipulou-se a escala das imagens obtidas em microscópio, convertendo 395,5017 pixels para 0,1 cm (Figura 6). As emulsões coletadas na saída do dispositivo foram coletadas em lâminas de vidro e observadas em microscópio óptico. A partir dessas imagens foi possível fazer a medida manual de alguns parâmetros das gotas de emulsão, incluindo a área, perímetro, ângulo de contato e diâmetro de cada uma das gotas (Tabela 1). Essa forma de medição será usada em análises posteriores de forma a avaliar o diâmetro médio e polidispersidade de tamanho das gotas.

## CONCLUSÕES:

Os objetivos iniciais deste projeto foram alcançados. O dispositivo microfluídico paralelizado de PDMS foi desenvolvido com sucesso pela técnica de litografia macia, permitindo a geração simultânea de gotas de emulsão água-em-óleo. Nos testes iniciais as vazões foram variadas a fim de encontrar uma razão entre a fase dispersa e contínua que pudesse ser aplicada em um dispositivo paralelizado em vazões maiores. A razão de 1:1 da fase aquosa para fase oleosa é a que permitiu um regime constante de produção de emulsões em vazões menores. Entretanto, percebeu-se que ao aplicar vazões maiores 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ , a força inercial da fase aquosa torna-se maior do que a força de cisalhamento necessária para formar emulsões, alterando o regime para *squeezing*.

## BIBLIOGRAFIA

- BASSETT, D.C. et al. Competitive ligand exchange of crosslinking ions for ionotropic hydrogel formation. **Journal of Material Chemistry B**, v. 4, p. 6175–6182, 2016.
- BAROUD, C. N.; WILLAIME, H. Multiphase flows in microfluidics. **Comptes Rendus Physique**, v. 5, n. 5, p. 547-555, 2004.
- CHANG, C. P.; DOBASHI, T. Preparation of alginate complex capsules containing eucalyptus essential oil and its controlled release. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 32, n. 3, p. 257-262, 2003.
- GOURDON, C.; ELGUE, S.; PRAT, L. What are the Needs for Process Intensification?. **Oil & Gas Science and Technology**, v. 70, p. 463-473, 2015.

- LIU, L. et al. Preparation of monodisperse calcium alginate microcapsules via internal gelation in microfluidic-generated double emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 404, p. 85-90, 2013.
- OLIVEIRA, A.F. *Bacillus subtilis* immobilization in alginate microfluidic-based microparticles aiming to improve lipase productivity. **Biochemical Engineering Journal**, v 143, p. 110-120, 2019.
- RODRIGUES, A.L. Gellan microgels produced in planar microfluidic devices. **Biochemical Engineering Journal**, v 209, p. 18025, 2017.
- ROMANOWSKY M.B. High throughput production of single core double emulsions in a parallelized microfluidic device. **Lab on a chip**, v. 12, n. 802, p. 802-807, 2012.
- SACKMANN, E. K., FULTON, A.L.; BEEBE, D. J. “The present and future role of microfluidics in biomedical research”. **Nature**, v. 507, p. 181, 2014.
- SEEMANN, F. Droplet Based Microfluidics. **Rep Prog Phys**, v. 75, p. 1-41, 2012.
- STEEGMANS, M. L. J. et al. Dynamic Interfacial Tension Measurements with Microfluidic Y-Junctions. **Langmuir**, v. 25, n. 17, p. 9751-9758, 2009.
- TUMARKIN, E.; KUMACHEVA, E. Microfluidic generation of microgels from synthetic and natural polymers. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 8, p. 2161-2168, 2009.
- VILELA, J. A. P. Emulsões contendo gelatina acilada: efeito do processamento e da adição de sais nos mecanismos de estabilização. UNICAMP, FEA. 2016.
- VAN DIJKE, K.C., VELDHUIS, G., SCHROËN, K. AND BOOM, R.M. Simultaneous formation of many droplets in a single microfluidic droplet formation unit. **Wiley InterScience**, v. 56, p. 833-836, 2010.
- VLADISAVLJEVIC, G. T.; KOBAYASHI, I.; NAKAJIMA, M. Production of uniform droplets using membrane, microchannel and microfluidic emulsification devices. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 13, n. 1, p. 151-178, 2012
- WHITESIDES, G.M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, p. 368 – 373, 2006.
- ZHANG, C et al. Emulsion droplet formation in coflowing liquid streams. **Physical review**, v. 87, p. 013002 (1-8), 2013.
- ZHANG, H. et al. Exploring microfluidic routes to microgels of biological polymers. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 28, n. 5, p. 527-538, 2007.
- ZHAO, C. X. Multiphase flow microfluidics for the production of single or multiple emulsions for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, p. 1420–1446, 2013.